

谷青,赵冬梅,张岱,等. 北方一作区马铃薯早疫病病菌群体 SSR 遗传结构分析[J]. 江苏农业科学,2018,46(19):88-92.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.19.023

北方一作区马铃薯早疫病病菌群体 SSR 遗传结构分析

谷青,赵冬梅,张岱,何佳昱,杨志辉,朱杰华

(河北农业大学植物保护学院,河北保定 071000)

摘要:为明确北方一作区马铃薯早疫病病菌不同地理群体的遗传结构,利用 5 对简单重复序列(simple sequence repeat,简称 SSR)引物对河北、黑龙江、辽宁、内蒙古和宁夏 5 个省(自治区)的 74 株马铃薯早疫病病菌进行遗传多样性分析。共检测出 26 个等位基因,45 个基因型,每对引物的等位基因数为 3~7 个,平均为 5.2 个。分析结果显示,5 省(自治区)的早疫病病菌菌株群体之间相似度都很高,处于 0.900 6~0.988 9 之间。相较而言,河北群体和辽宁群体的亲缘关系较近,内蒙古群体和黑龙江群体的亲缘关系较近,宁夏群体单独为 1 个分支,表明 SSR 基因型与菌株的地理来源有相关性。研究还发现,在被测的 45 个基因型中,仅出现 1 次的基因型有 37 个,占 82.2%,说明群体遗传多样性高,推测是准性生殖和人类介导的基因流动共同作用的结果。

关键词:马铃薯早疫病;茄链格孢;遗传多样性;SSR 分子标记

中图分类号: S435.32 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)19-0088-04

随着马铃薯成为继水稻、小麦和玉米之后的世界第四大粮食作物,中国以占全球总种植面积的 26.3% 和全球总产量的 22.2% 成为全球最大的马铃薯生产国^[1]。但是,由茄链格孢(*Alternaria solani*)引起的马铃薯早疫病一般可对马铃薯主产区造成 20%~25% 的损失,严重时可达 70%~80%^[2]。马铃薯早疫病是一种气传多循环流行性病害,其病菌对环境的适应能力强。近年来,马铃薯早疫病在我国大多数马铃薯主产区频繁发生和流行,严重影响着马铃薯产业的健康发展^[3]。病原菌的遗传变异和病菌的生存能力与对植物的致病能力有关,从而会影响病害的发生与流行,进而对病害防控产生重要影响^[4],因此,了解一个区域病原菌的群体结构对于可持续防控病害有极为重要的理论基础作用^[5]。

目前,随机扩增多态性 DNA 标记(random amplified polymorphic DNA,简称 RAPD)、扩增片段长度多态性(amplified fragment length polymorphism,简称 AFLP)、简单序列重复区间(inter-simple sequence repeat,简称 ISSR)和简单重复序列(simple sequence repeat,简称 SSR)分子标记技术已被应用于茄链格孢以及其相关种类的遗传多样性研究。Sharma 等利用 RAPD 标记分析了芸薹生链格孢(*A. brassicicola*)、芸薹链格孢(*A. brassicae*)和萝卜链格孢(*A. raphani*)等 3 种链格孢属真菌,发现其基因型分化和地理来源之间存在明显的相关性^[6]。张福光利用 AFLP 分子标记分析河北马铃薯早疫病病菌的群体遗传结构,结果显示,供试群体的遗传多样性较高,且 AFLP 分支与地理来源和病原菌产孢量有一定相关性^[7]。SSR 是由 1~6 个核苷酸组成的基本单元重复多次构成的,在大多数真核生物基因组中丰富且具

有高度多态性^[8]。此外,SSR 技术可靠,需要样品量少,且简单易操作,可产生共显性和物种特异性遗传标记,因而在群体结构研究中十分有利^[9-10]。Meng 等利用基因组文库开发了 7 对 SSR 分子标记,对中国的黑龙江省、河南省、云南省和福建省茄链格孢菌群体进行遗传研究,种群遗传分析表明,病菌遗传变异率很高,且菌群间无明显地理隔离,推测这可能是隐藏的有性生殖和人类介导的基因流动共同作用的结果^[11]。

为明确北方一作区马铃薯早疫病病菌的遗传结构,研究其基因型与地理来源之间的关系,本研究利用笔者所在实验室基于全基因组序列开发出的 5 对具有多态性的茄链格孢基因组微卫星分子标记,对采自河北、黑龙江、内蒙古、辽宁和宁夏 5 省(自治区)的马铃薯早疫病病菌菌株进行分析,也为探讨北方一作区马铃薯早疫病病菌近年来发生流行规律的变化及防治提供参考。

1 材料与方法

本试验于 2016 年 8—9 月在河北农业大学植物保护学院马铃薯病害研究中心完成。

1.1 试验材料

1.1.1 供试菌株 供试菌株均由笔者所在实验室于田间采集典型发病叶片,取病健交界处后经组织分离所得。采集自河北、黑龙江、辽宁、内蒙古和宁夏 5 省(自治区)的菌株共 74 株,详细信息见表 1。

1.1.2 供试 SSR 引物 本试验采用笔者所在实验室设计的 5 对具有多态性的 SSR 引物,分别是 As-11933、As-36238、As-33836、As-43626、As-97240。5 对引物通过超纯聚丙烯酰胺凝胶电泳(ultra polyacrylamide gel electrophoresis,简称 ULTRAPAGE)纯化方法,正向引物 5' 端修饰 Fam、Hem、Tamrad 3 种荧光基团,由生工生物工程(上海)股份有限公司合成,引物详细信息见表 2。

1.2 方法

1.2.1 DNA 提取和反应体系的构建 马铃薯早疫病病菌

收稿日期:2017-02-24

基金项目:现代农业产业技术体系建设专项(编号:CARS-10-P12)。
作者简介:谷青(1991—),女,河北石家庄人,硕士研究生,主要从事植物病理学研究。E-mail:guqing0708@163.com。

通信作者:朱杰华,硕士,教授,博士生导师,主要从事植物病理学研究。E-mail:zhujiehua356@126.com。

表 1 供试菌株信息

采集地点	编号	菌种数量 (株)
河北省	HB1-1~HB1-7	14
	HB2-1~HB2-7	
黑龙江省	HLJ1-1~HLJ1-10	15
	HLJ2-1~HLJ2-5	
辽宁省	LN1-1~LN1-15	15
内蒙古自治区	NMG1-1~NMG1-2	15
	NMG2-1~NMG2-10	
	NMG3-1~NMG3-3	
宁夏回族自治区	NX-1~NX-15	15
合计		74

表 2 早疫病病菌 5 个基因座对 SSR 引物及其序列

基因座	序列(5'→3')	5'端荧光修饰
As-11933	上游:CGCGCAACGATGATAAACT;下游:CGCGATAATAACGCCACAC	Fam
As-36238	上游:TCTCGGAAGCAGATGGAACG;下游:TGCCGTCTTTGGCGATACTG	Tamrad
As-33836	上游:TGGATACCGCACGCAAGAAT;下游:CTGGATCGGCTAGTGAACCG	Hem
As-43626	上游:TAATTTACCCACGGCAGCGA;下游:AGGACTCGCTATCATCACGC	Fam
As-97240	上游:AGTGGCGGTAAAGTCTGTCA;下游:CTGCTCGACTGCATGAGACT	Hem

疫病病菌菌株的等位基因频率、Nei's 基因多样性指数(H)、Shannon's 多样性指数(I)、群体间的遗传距离和遗传一致度进行分析。

1.2.3 马铃薯早疫病病菌聚类分析 通过 MEGA 6.06 软件^[14]打开 POPGENE Version 1.32^[13]生成的 dgram. plt 聚类图文件,对 5 省(自治区)群体间亲缘关系进行编辑修饰,通过 NTSYS pc 2.1^[15]的 SAHN 邻接法进行非加权配对算术平均法(unweighted pair-group method with arithmetic means,简称 UPGMA)聚类分析。

2 结果与分析

2.1 马铃薯早疫病病菌 SSR 基因座等位基因频率分析

本研究利用 5 对 SSR 引物对 74 株早疫病病菌株(表 1)的基因组 DNA 对应的基因座进行 PCR 扩增,共检测出 26 个等位基因,平均每对引物检出 5.2 个等位基因。在供试的 74 个早疫病病菌菌株中,基因座 As-11933 被检测出的等位基因数最多,为 7 个,而基因座 As-43626 被检测出的等位基因数最少,仅有 3 个(表 3)。

等位基因频率越高,代表该等位基因是当地的优势基因型(表 3)。在 26 个等位基因中,有 6 个为单个群体所特有的,占全部等位基因的 23.08%,10 个为 5 个群体所共有的,占全部等位基因的 38.46%。其中河北群体特有的等位基因有 2 个,分别位于 As-11933、As-33836 基因座中,辽宁群体特有的 2 个等位基因分别出现在 As-33836、As-97240 基因座中,内蒙古群体和宁夏群体各自特有的 1 个等位基因均出现在 As-36238 基因座中,黑龙江群体无特有等位基因(表 3)。占群体全部等位基因 38.46%的共有等位基因频率较高,70%在 0.500 0 以上,推测这是北方一作区马铃薯早疫病病菌共有的基因,而占全部等位基因 23.08%的特有等位基因可能是新变异形成的基因,将来可能会对该地区马铃薯早疫病流行造成影响。

DNA 采用张福光等改良的 CTAB 法^[12]提取。以 ddH₂O 为阴性对照,扩增反应总体系为 15 μL:7.5 μL 2×Taq PCR Master Mix,各 0.15 μL 10 μmol/L 引物,0.5 μL 模板 DNA,6.7 μL ddH₂O。反应程序:94 ℃ 2 min;94 ℃ 30 s,65 ℃ 40 s;72 ℃ 15 s,共 30 个循环;72 ℃ 10 min。反应结束后,取 2 μL PCR 产物经 1%[1×TAE 缓冲液,TAE 由三羟甲基氨基甲烷(tris base)、乙酸(acetic acid)和乙二胺四乙酸(EDTA)组成]琼脂糖凝胶电泳后,在凝胶成像系统上观察并拍照,将剩余 PCR 产物送至生工生物工程(上海)股份有限公司检测。

1.2.2 SSR 数据分析 根据生工生物工程(上海)股份有限公司返回的 SSR 标记测序峰图,记录多态性位点,有峰标记的记为“1”,无峰标记的记为“0”,在 Excel 中建立“0,1”矩阵。采用 POPGENE Version 1.31 软件^[13]对 5 省(自治区)早

表 3 5 个微卫星基因座的等位基因频率及分布

基因座	等位基因	等位基因频率				
		河北	黑龙江	辽宁	内蒙古	宁夏
As-11933	1 ^a	0.071 4	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0
	2	0.000 0	0.133 3	0.066 7	0.200 0	0.000 0
	3 [*]	0.214 3	0.666 7	0.333 3	0.466 7	0.133 3
	4	0.142 9	0.000 0	0.333 3	0.066 7	0.066 7
	5	0.071 4	0.133 3	0.000 0	0.000 0	0.000 0
	6	0.214 3	0.000 0	0.200 0	0.133 3	0.666 7
	7 [*]	0.642 9	0.933 3	0.733 3	0.866 7	0.266 7
As-33836	1 [*]	0.714 3	0.800 0	0.733 3	0.933 3	0.866 7
	2 ^a	0.142 9	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0
	3 [*]	0.642 9	0.933 3	0.866 7	0.866 7	0.333 3
	4 ^b	0.000 0	0.000 0	0.066 7	0.000 0	0.000 0
	5	0.071 4	0.133 3	0.066 7	0.000 0	0.133 3
As-36238	1 ^c	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.066 7	0.000 0
	2 [*]	0.571 4	0.733 3	0.866 7	0.800 0	0.466 7
	3	0.142 9	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.066 7
	4 [*]	0.214 3	0.266 7	0.133 3	0.133 3	0.466 7
	5 ^d	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.066 7
	6	0.571 4	0.533 3	0.666 7	0.666 7	0.000 0
As-43626	1	0.000 0	0.066 7	0.000 0	0.066 7	0.000 0
	2 [*]	0.857 1	0.933 3	0.933 3	0.800 0	1.000 0
	3 [*]	0.428 6	0.400 0	0.466 7	0.333 3	0.133 3
As-97240	1b	0.000 0	0.000 0	0.066 7	0.000 0	0.000 0
	2 [*]	0.714 3	0.666 7	0.533 3	0.533 3	0.866 7
	3	0.142 9	0.200 0	0.066 7	0.333 3	0.000 0
	4 [*]	0.357 1	0.133 3	0.400 0	0.133 3	0.200 0
	5	0.000 0	0.000 0	0.066 7	0.066 7	0.000 0

注:标有“a”“b”“c”“d”的分别代表河北、辽宁、内蒙古、宁夏群体特有的等位基因。“*”代表河北、黑龙江、辽宁、内蒙古、宁夏群体共有的等位基因。等位基因对应数字表示不同片段的峰值编号。

2.2 马铃薯早疫病病菌不同区域间遗传多样性分析

由表 4 可知,5 个早疫病病菌菌株群体的多态性基因位

点数范围为 14~19 个,平均为 17.2 个;多态性基因位点比例范围为 53.85%~73.08%,平均为 66.16%;有效等位基因数(N_e) 在 1.254 8~1.400 4 个之间,平均为 1.319 3 个;Shannon's 信息指数在 0.247 4~0.368 5 之间,平均为 0.306 6;Nei's 基因多样性指数在 0.158 6~0.242 2 之间,平均为 0.197 5。河北和辽宁群体的 Shannon's 信息指数和 Nei's 基因多样性指数相近,黑龙江和内蒙古群体的 Shannon's 信息指数和 Nei's 基因多样性指数相近,而宁夏群体的这 2 个指数与上述 4 个群体相差较大。其中,尤以河北群体的 Shannon's 信息指数和 Nei's 基因多样性指数最高,宁夏群体的 Shannon's 信息指数和 Nei's 基因多样性指数最低,说明河北早疫病菌菌株的遗传多样性最高,宁夏群体的遗传多样性最低。

表 4 5 省(自治区)马铃薯早疫病病菌群体的遗传多样性分析结果

群体	多态性基因位点数(个)	多态位点比例(%)	有效等位基因数(个)	Shannon's 信息指数	Nei's 基因多样性指数
河北	19	73.08	1.400 4	0.368 5	0.242 2
黑龙江	16	61.54	1.288 9	0.282 6	0.181 2
辽宁	19	73.08	1.344 5	0.327 6	0.210 6
内蒙古	18	69.23	1.308 0	0.306 9	0.194 9
宁夏	14	53.85	1.254 8	0.247 4	0.158 6
平均	17.2	66.16	1.319 3	0.306 6	0.197 5

2.3 马铃薯早疫病病菌不同区域间遗传分化和亲缘关系聚类分析

通过 POPGENE^[13] 软件对 5 个地区群体间的遗传关系进行分析,其中遗传相似度越接近 1,表明 2 个群体越相似。由表 5 可见,各群体之间相似度都很高,处于 0.900 6~0.988 9 之间。其中黑龙江与内蒙古马铃薯早疫病病菌群体间遗传相似度最大,遗传距离最小,分别为 0.988 9、0.011 2,而宁夏与黑龙江群体间遗传相似度最小,遗传距离最大,分别为 0.900 6、0.104 7。

表 5 5 省(自治区)马铃薯早疫病病菌的遗传相似度和遗传距离

群体	河北	黑龙江	辽宁	内蒙古	宁夏
河北		0.970 7	0.983 9	0.974 2	0.948 4
黑龙江	0.029 7		0.975 3	0.988 9	0.900 6
辽宁	0.016 3	0.025 0		0.982 0	0.912 4
内蒙古	0.026 1	0.011 2	0.018 1		0.902 2
宁夏	0.053 0	0.104 7	0.091 7	0.102 9	

注:对角线上方数据为遗传相似度,对角线下方数据为遗传距离。

通过 MEGA 软件^[14] 对 5 省(自治区)群体遗传距离进行 UPGMA 聚类,图 1 结果显示,5 省(自治区)马铃薯早疫病病菌群体可以分为 3 类,其中黑龙江菌株和内蒙古菌株聚为 1 个小分支,辽宁菌株与河北菌株聚为 1 个小分支,宁夏菌株单独为 1 个分支。从地理位置上来看,黑龙江与内蒙古菌株采集地点相邻,属于东北区域,辽宁与河北菌株采集地点相邻,属于华北区域,而宁夏属于西北区域,距离东北、华北两大区域较远,这显示群体遗传距离与地理距离相符合。

2.4 马铃薯早疫病病菌微卫星聚类分析

用生物学统计软件 NTSYSpc 2.1^[15] 进行分析,结果显示,26 个等位基因组合共检测到 45 个基因型。其中河北检测到 13 个基因型,内蒙古和黑龙江分别检测到 12 个基因型,

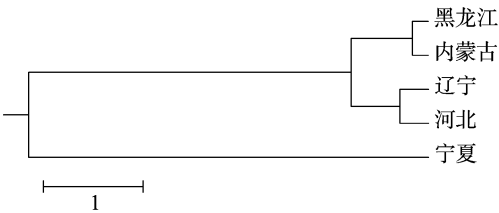


图 1 5 省(自治区)马铃薯早疫病病菌群体间亲缘关系 UPGMA 聚类结果

辽宁检测到 9 个基因型,宁夏检测到 11 个基因型。占整个群体 82.2% 的 37 个基因型仅被检测到 1 次,占整个群体 17.8% 的 8 个基因型不止在 1 个区域被检测到。被测群体中最丰富的基因型①被检测到 14 次,占整个群体的 18.91%,分布于除宁夏外的其余 4 个区域,是北方一作区的优势基因型;其次,被检测到 5 次的基因型②是黑龙江群体的优势基因型,被检测到 4 次的基因型③是辽宁群体的优势基因型,分别被检测到 4、3 次的基因型④⑤是宁夏的优势基因型。

由树状聚类图发现,当相似系数为 0.73 时,可划分为 2 大类群,其中第 2 大类群菌株主要来自宁夏;当相似系数为 0.76 时,第 1 大类群可分为 2 个亚类群,其中第 2 亚群菌株主要来自黑龙江、内蒙古,第 1 亚群菌株遗传多样性丰富,包括河北、辽宁的绝大部分菌株,以及内蒙古、黑龙江的大部分菌株,还有 2 株宁夏的菌株(图 2)。这些结果显示,宁夏群体与另外 4 省(自治区)群体的遗传距离较大,与用 MEGA 软件对 5 省(自治区)群体遗传距离进行 UPGMA 聚类分析的结果相符。

3 讨论与结论

在群体遗传研究中,分子标记应该集可靠性、可重复性于一体^[16-17],其中,SSR 分子标记满足以上要求,且样品需要量少,简单易操作,可产生共显性和物种特异性遗传标记,因而在群体结构研究中应用广泛^[9-10]。

在物种群体遗传结构研究中,物种与其地理来源之间的关系一直倍受关注。Kakvan 等研究发现,链格孢属链格孢(*Alternaria alternata*)的基因型与其地理来源存在一定的相关性^[18-19]。本研究利用 SSR 分子标记对中国北方马铃薯一作区马铃薯早疫病病菌群体进行了研究,发现 5 个群体间亲缘关系与地理来源有一定的相关性,这与张福光等利用 AFLP 分子标记的研究结果^[12] 相符。马铃薯早疫病病菌群体聚类显示,宁夏菌株和其余 4 个区域菌株有差别,单独成为 1 个分支,河北和辽宁群体、黑龙江和内蒙古群体的相似度高,这与地理分布上河北与辽宁接壤,属于华北区域,黑龙江与内蒙古菌株采集地点接壤,属于东北区域,宁夏属于西北区域,距其余 4 省(自治区)较远的特点相符合。东北、华北、西北三大区域的气候条件不同,易造成马铃薯早疫病病菌发生、遗传结构不同,且由于马铃薯早疫病病菌分生孢子跨区域长距离传播的能力比较低,因而易造成相邻区域间基因型更为相似的现象。而河北、辽宁、黑龙江、内蒙古群体的遗传距离小,这可能是种薯调运,随种薯材料在不同生产区域间传播,使其获得广泛的基因交流的结果。西北宁夏群体与东北、华北区域马铃薯早疫病病菌群体的遗传距离相差较大,说明宁夏马铃薯

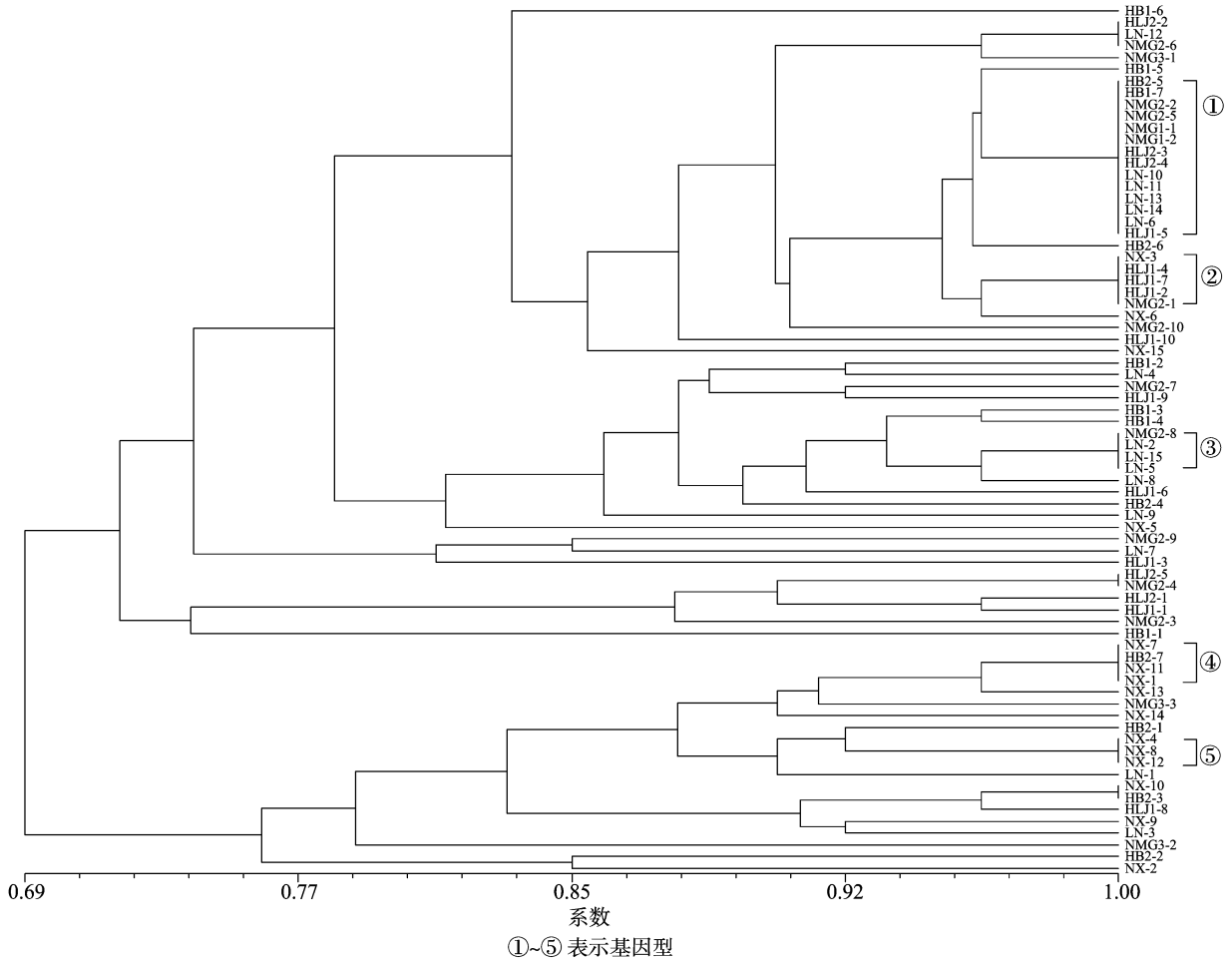


图2 74株马铃薯早疫病病菌基于5对微卫星标记的聚类树

早疫病病菌与其他4省(自治区)早疫病病菌不同,今后可在防治和对药剂的敏感性方面作进一步研究。

遗传变异是种群多样性的重要因素,目前普遍认为茄链格孢菌是通过无性生殖繁殖的^[20],但是无性生殖中由基因突变、染色体变异引起的遗传变异概率是非常低的,而本研究发现,占整个群体82.2%的37个基因型仅被检测到1次,说明群体遗传多样性高,因此笔者推测,茄链格孢菌不止无性生殖。且在一些试验中,笔者发现了茄链格孢菌菌丝融合、异核体形成,以及细胞核融合的现象,这提示茄链格孢菌可能存在准性生殖现象。

参考文献:

- [1] Wang B, Ma Y, Zhang Z, et al. Potato viruses in China[J]. Crop Protection, 2011, 30(9): 1117 - 1123.
- [2] Pasche J S, Piche L M, Gudmestad N C. Effect of the F129L mutation in *Alternaria solani* on fungicides affecting mitochondrial respiration[J]. Plant Disease, 2005, 81(230(3)): 269 - 278.
- [3] Olanya O M, Honeycutt C W, Larkin R P, et al. The effect of cropping systems and irrigation management on development of potato early blight[J]. Journal of General Plant Pathology, 2009, 75(4): 267 - 275.
- [4] Parker I M, Gilbert G S. The evolutionary ecology of novel plant - pathogen interactions[J]. Annual Review of Ecology Evolution & Systematics, 2004, 35: 675 - 700.

- [5] Zhan J, Thrall P H, Burdon J J. Achieving sustainable plant disease management through evolutionary principles[J]. Trends in Plant Science, 2014, 19(9): 570 - 575.
- [6] Sharma T R, Tewari J P. RAPD analysis of three *Alternaria* species pathogenic to crucifers[J]. Mycological Research, 1998, 102(7): 807 - 814.
- [7] 张福光. 河北省早疫病菌群体结构研究及马铃薯栽培品种对早疫病的抗性评价[D]. 保定: 河北农业大学, 2011.
- [8] Tautz D. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers[J]. Nucleic Acids Research, 1989, 17(16): 6463 - 6471.
- [9] Varshney R K, Graner A, Sorrells M E. Genic microsatellite markers in plants: features and applications[J]. Trends in Biotechnology, 2005, 23(1): 48 - 55.
- [10] Méndez - Vigo B, Gomaa N H, Alonso - Blanco C, et al. Among - and within - population variation in flowering time of Iberian *Arabidopsis thaliana* estimated in field and glasshouse conditions[J]. New Phytologist, 2013, 197(4): 1332 - 1343.
- [11] Meng J W, Zhu W, He M H, et al. High genotype diversity and lack of isolation by distance in the *Alternaria solani* populations from China[J]. Plant Pathology, 2015, 64(2): 434 - 441.
- [12] 张福光, 杨志辉, 朱杰华, 等. 河北省马铃薯早疫病菌群体遗传结构的研究[J]. 菌物学报, 2012, 31(1): 40 - 49.
- [13] Francis C Y, Rong C Y, Boyle T. POPGENE, Microsoft windows based freeware for population genetic analysis[Z]//Molecular

郭志军,冯自力. 播期与密度对棉花黄萎病的影响[J]. 江苏农业科学,2018,46(19):92-94.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.19.024

播期与密度对棉花黄萎病的影响

郭志军, 冯自力

(中国农业科学院棉花研究所/棉花生物学国家重点实验室,河南安阳 455000)

摘要:以中棉所 50、中棉所 60 为试验材料,分别设置 2 个播期试验和 1 个密度试验,研究棉花播期和密度对黄萎病的影响。结果表明,播期试验中不同播期处理下中棉所 50 的病情指数排序为 5 月 15 日 > 5 月 26 日 > 6 月 5 日 > 6 月 16 日 > 6 月 26 日;不同处理下中棉所 50 和中棉所 60 的病情指数排序均为 5 月 1 日 > 5 月 26 日 > 6 月 16 日;不同密度处理下中棉所 60 的病情指数排序为 11.25 万株/hm² 处理 > 7.50 万株/hm² 处理 > 15.00 万株/hm² 处理 > 18.75 万株/hm² 处理 > 22.50 万株/hm²。表明推迟播期和加大播种密度均可有效减轻棉花黄萎病危害的发生。能为通过调整播期和播种密度对棉花黄萎病进行防治提供理论依据。

关键词:棉花;黄萎病;播期;播种密度;生物防治

中图分类号: S474⁺.1;S435.621.2⁺4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)19-0092-03

棉花黄萎病是一种土传真菌维管束病害,前人研究结果表明大丽轮枝菌(*Verticillium dahlia* Kleb.)是我国棉花黄萎病的主要致病菌^[1]。大丽轮枝菌具有寄生范围广、存活时间长、易受寄主变化和环境的影响而产生新生理小种的特点,以致棉花黄萎病在实际生产中很难被彻底根治^[2-3]。棉花黄萎病的发生一般会导致棉花减产 10%~30%,严重棉田减产可达 80% 以上,甚至绝收,严重威胁和阻碍着棉花生产的发展。

长期生产实践表明,选育并种植抗病品种是防治棉花黄萎病的一种高效措施,但选育抗病品种周期较长,进展较慢^[3-4]。前人也尝试过农业防治、化学药剂防治、生物防治以及有机肥防治等方法,虽取得了一些成效,但都有一定的局限性,不适合在生产中大面积、长期应用^[5]。目前,通过调整栽培措施对棉花黄萎病进行防治的报道尚不多见。孙君灵等研

究发现,适当晚播会使棉花黄萎病的侵染和扩展受到抑制,黄萎病发生较轻^[6]。刘存敬认为,黄萎病病情指数并未随着播期的改变而呈现出规律性变化^[7]。本研究分别设置 2 个播期试验和 1 个密度试验,研究播期和密度对棉花黄萎病的影响,论证通过调整播期和种植密度对棉花黄萎病进行防治的可行性。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为转 *Bt* 基因早熟常规棉品种——中棉所 50,转基因抗虫常规棉品种——中棉所 60。

1.2 试验设计

2017 年于河南省安阳市白璧镇中国农业科学院棉花研究所试验农场东场试验基地(以下简称东场)和南场试验基地(以下简称南场)开展播期和密度试验,试验地均为黏性土壤,肥力较高且均匀,中等致病田。田间管理同当地常规大田棉花生产管理。

2 个播期试验和 1 个密度试验中,每个处理均设 3 个重复,每个重复 6 行区,8 m 行长,等行距 0.8 m,田间随机区组排列。播期试验播种密度为 7.5 万株/hm²,密度试验播期为

收稿日期:2018-02-09

基金项目:国家重点研发计划(编号:2017YFD0201906);公益性行业(农业)科研专项(编号:201503109)。

作者简介:郭志军(1988—),男,河南濮阳人,硕士,助理研究员,主要从事棉花和玉米的抗病育种研究。E-mail: heqinayang@163.com。

biology and biotechnology centre. Edmonton, Canada; University of Alberta, 1999.

[14] Tamura K, Stecher G, Peterson D, et al. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0 [J]. Molecular Biology Evolution, 2013, 30(12): 2725-2729.

[15] Rohlf F J. NTSYS-PC, Numerical taxonomy system for the PC Exeter Software, Version 2.1d. Exeter Software[Z]. Setauket, New York. 2000.

[16] Brown J K M. The choice of molecular marker methods for population genetic studies of plant pathogens[J]. New Phytologist, 1996, 133(1): 183-195.

[17] Cooke D E L, Lees A K. Markers, old and new, for examining *Phytophthora infestans* diversity[J]. Plant Pathology, 2004, 53(6):

692-704.

[18] Kakvan N, Zamanizadeh H, Morid B, et al. Study on pathogenic and genetic diversity of *Alternaria alternata* isolated from citrus hybrids of Iran, based on RAPD-PCR technique [J]. European Journal of Experimental Biology, 2012, 2(3): 570-576.

[19] Ghasemloo M, Niazmand A R. Genetic diversity of *Alternaria alternata* associated with *Citrus* spp. in southern Iran based on RAPD-PCR [J]. Journal of Pure and Applied Microbiology, 2015, 9(1): 473-482.

[20] Stewart J E, Kawabe M, Abdo Z, et al. Contrasting codon usage patterns and purifying selection at the mating locus in putatively asexual *Alternaria* fungal species [J]. PLoS One, 2011, 6(5): e20083.